

نامۀ دانش پزشکی

بیئت تحریریه

دکتر علی‌الدین فیضی	دکتر حسین سرب	دکتر کمال آرمین
دکتر محمد علی کنگی	دکتر جهان‌شاه صالح	دکتر محمد حسین ارباب
دکتر حسن میرزااوی	دکتر محمد قریب	دکتر محمد بهشتی
دکتر ابوالقاسم کرم‌آبادی	دکتر نصرالله کاکای	دکتر صادق پردرختی

رئیس بیئت تحریریه - دکتر جهان‌شاه صالح

صاحب‌بنیاد و مدیر مجله: دکتر محمد بهشتی

شماره پنجم

دی ماه ۱۳۳۷

سال شانزدهم

روش سریع آزمایش فیکساسیون کمپلمان برای تشخیص سیفیلیس (آزمایش M. C. F.^(۱))

نگارش

دکتر میردامادی

استاد کرسی سرم‌شناسی دانشکده پزشکی

با وجود آزمایش‌های خوب و متعدد فلوکولاسیون مانند آزمایش مانیکه - مولر-کان - کلاین و وی‌دی آرال و غیره که در جریان سی سال اخیر در زمینه تشخیص سرمی سیفیلیس پیدا شده آزمایش ثبوت کمپلمان هنوز هم موقعیت اصلی خود را حفظ نموده است.

با اینحال در کشورهای متحده آمریکا آزمایش‌های فلوکولاسیون بواسطه آنکه وقت کمی برای اجرای آن‌ها صرف می‌شود عموماً آزمایش‌های برگزیده و مورد توجه

است اما در جاهای دیگر هنوز هم آزمایش‌های ثبوت کمپلمان فراوان برای تشخیص سیفیلیس بکار می‌رود.

مجمع اتفاق ملل در دونوبت توصیه نموده است که با هر آزمایش فلو کولاسیون يك آزمایش ثبوت کمپلمان نیز باید برای تشخیص سیفیلیس بعمل آید. و این نظر به رادر طی کنفرانسهای ۱۹۲۸ کینهاک و ۱۹۳۰ مونته‌ویدئو (۱) ابراز نموده است. - حتی در بعضی از کشورهای اروپا مانند آلمان بموجب قانون هر آزمایش فلو کولاسیون که برای تشخیص سیفیلیس بعمل می‌آید باید همراه با آزمایش ثبوت کمپلمان باشد. - از این گذشته آزمایش‌های ثبوت کمپلمان برای تشخیص بیماری‌های وابسته بریکتزی‌ها - ویروسها - توکسوپلاسمها و خیلی دیگر از بیماری‌های انگلی و میکروبی مورد استعمال فراوان دارد.

نخستین آزمایش ثبوت کمپلمان بسال ۱۹۰۶ بوسیله واسرمن نایسروبروک بعمل آمد و این کارشناسان آنرا بر اساس پدیده برده‌وژانگو بمیان آوردند. - پس از آن تغییرات بیشماری که از طرف کارشناسان دیگر بدین آزمایش داده شده بحساسیت و صفات اختصاصی آن افزوده گردید.

این تغییرات و اصلاحات بیشتر متوجه مجموعه حلاله - تهیه آنتی ژن - مدت و حرارتی که مخلوط آنتی ژن و سرم و کمپلمان باید در آن بماند گردیده است.

هر چند مجموعه حلاله‌ایکه معمولاً بکار رفته و می‌رود عبارت است از خون گوسفند - اما خون خرگوش و یا انسان همراه با همولیزین متناسب با آنها نیز استعمال شده است.

کارشناسان دیگر نیز مانند هشت - لوادیتی - لاتاپی - روبین - اشنین - گراودول - وین برگ - و مورتیمیلش نیز از نیروی حلاله طبیعی سرم انسان و کمپلمان طبیعی آن استفاده کرده‌اند.

روش تهیه آنتی ژن همچنان مورد اصلاحات و تغییرات بیشمار قرار گرفته و هر کارشناس بسهم خود مواد لیبیدی غیر محلول در اترواستون و محلول در الکل قلب انسان

یاخو کچه هندی - اسب - گاو و غیره و یا مخلوطی از لیپیدهای محلول در استون والکل قالب را بعنوان آنتی ژن بکار برده است.

از سال ۱۹۱۱ که اثرات حساس کننده کلسترول در آنتی ژن های لیپیدی توسط زاگس (۱) آلمانی کشف گردیده این ماده بطور روز افزون بعنوان حساس کننده در آنتی ژنهای لیپیدی بکار رفت -

سال ۱۹۴۱ اصلاح دیگری توسط خانم ماری پنک برن (۲) بعمل آمد - وی از لیپیدهای بافت قالب یک فسفور لیپیدی را بنام کاریدولی پین استخراج نمود - این ماده در صورتیکه بمقدار متناسب با لیسیتین و کلسترول مخلوط شود ترکیب مخصوصی بدست میدهد که آنتی ژن کاریولی پی نی نام دارد . و بعقیده برخی از کارشناسان نتایج اختصاصی بیشتری نسبت با آنتی ژنهای لیپیدی بدست میدهد.

مخلوطی از نمونه زهرا گین ترپونم سیفیلیس (نمونه نیکولس (۳)) که از بیضه خرگوش آلوده گرفته میشود و یا فرآورده کشت نمونه اسپروکت رایتر (۴) و یا پروتئین های مخصوص و جدا شده ترپونم مخلوط با لیپیدهای قلبی همچنان بعنوان آنتی ژن بکار رفته است.

روش اجرای آزمایش ثبوت کمپلمان برای تشخیص سیفیلیس همچنان مورد تغییرات و اصلاحات فراوان قرار گرفته است.

تعداد این تغییرات و اصلاحات باز دازه ایستکه نمیتوان حتی بطور خلاصه آنها را یادآوری نمود اما میتوان خوشبختانه آنها را بچهار گروه بشرح زیر دسته بندی نمود:

۱- دسته اول آنهایکه حرارت ۳۷ درجه را بمدت یکساعت یا بیشتر برای حساسیت آنتی ژن و ثبوت کمپلمان بکار میبرند (آزمایش نلسون مایر (۵) نیز جزو همین دسته بشمار رفته است).

۲- روشهائیکه در آنها حرارت ۶درجه بمدت چهارساعت یا بیشتر برای ثبوت کمپلمان معمول میباشد.

۳- روشهائیکه حرارت ۳۷درجه وهم حرارت یخچال در آنها برای ثبوت کمپلمان متداول میباشد.

۴- روشهائیکه در آنها حرکت جانشین گرمخانه و یخچال میگردد. روشهای دسته اخیر که نویسنده آنها را روشهای سریع و چرخشی ثبوت کمپلمان نام گذاری کرده است از چند سال پیش توسط برخی از کار شناسان مانند کادیش (۱)- ناوارو مارتین (۲) هومبریا (۳) و بتازگی توسط پورتلا (۴) بکار برده شده است اما همه این کارشناسان حرکت شدید را برای اجرای روش خود بکار برده اند.

اکنون باید در نظر گرفت که حرکت شدید مخلوط آنتی ژن، سرم و کمپلمان نه تنها سبب جدا شدن پادتن از آنتی ژن میگردد بلکه کمپلمان را نیز بی اثر میکند. در صورتیکه حرکت ملایمی که در آغاز بر سرم و آنتی ژن به تنهایی و سپس مخلوطی از آندو با کمپلمان بعمل آید میتواند حتی با مزایایی چند جانشین مدت یکساعت ماندن مخلوط در ۳۷درجه و یا مدت دراز (۴ تا ۱۸ ساعت) در گرمی ۶درجه گردد.

در حقیقت هیچ دلیل و مدرک درستی در دست نیست تا بتوان گفت که ماندن مخلوط آنتی ژن، سرم و کمپلمان در گرمی ۳۷ درجه بمدت یکساعت یا بیشتر و یا گرمی ۶درجه بمدت ۴ساعت یا بیشتر سبب بهم پیوستن یکنواخت مولکولهای پادتن بر ذرات آنتی ژن میگردد. در صورتیکه دلایل کافی موجود است تا بر طبق آنها ثابت شود که بر اثر حرکت ملایم مواد مختلف بهم بستگی سریع و متحدالشکل مولکولهای پادتن و ذرات آنتی ژن بهتر صورت میگیرد بشرط آنکه این مخلوط بمدت و سرعت و در حرارت متناسبی چرخانده شود.

مسلم است که واکنشهای آگلوتیناسیون و پرسیپیتاسیون بر اثر حرکت تسریع میگردد بنابراین دلیلی نیست که عین همین اثرات را برای ثبوت کمپلمان که در حقیقت

مانند دو پدیده یاد شده یک پدیده ادسورسیون (۱) در نظر گرفته نشود. حتی بتازگی ثابت شده است که در آزمایش نلسون حرکت اثرات نکوئی بر بیحرکت ساختن ترپونم دارد و این کیفیت بواسطه آنست که مجاورت یک نواخت و مرتب و سریعتری از مولکولهای ایموبیلیزین با سلولهای آنتی ژن یعنی ترپونم بعمل میآید. از این گذشته در تمام اینگونه روشها، کمپلمان در همان وحله اول یعنی بلافاصله بمخلوط آنتی ژن، سرم افزوده میشود در صورتیکه مسلم است که هر یک از این عناصر بردیگری به ترتیبی خاص اثر میکند و بر طبق همین اصل مسلم بهم بستگی میان آنتی ژن و پادتن باید پیشاپیش یعنی پیش از افزایش کمپلمان انجام گردد.

بموجب نظریه تیل (۲) و امبلدون (۳) مولکولهای پادتن با ذرات آنتی ژن بدون در نظر گرفتن غلظت پادتن انجام میگیرد. و حال آنکه ثبوت کمپلمان وابسته بوجود حداقل غلظتی از کمپلمان است که در هر ساعتی کمتر مکعب از مخلوط موجود باشد.

این موضوع توسط هیدلبرگر (۴) و همکارانش با ثبات رسیده است. که انحلال گلبولهای سرخ فوق العاده نسبت بغلظت نمکی، محلول و حجم مایع همچنین حرارت و میزان pH اختلاف پیدا میکنند بطوریکه در حجمهای کوچک و غلظت های زیاد نه تنها واکنش اصلی صورت نمیگیرد بلکه همولیز سریعتر و واکنشهای فرعی کمتر است بعلاوه نتایجیکه هیدلبرگر و همکارانش بدست آورده اند نشان میدهد که حرارت ۳۵ درجه برای ثبوت کمپلمان ممکن است بهتر از حرارت ۳۷ درجه باشد.

با در نظر گرفتن اصول و نکات یاد شده نویسنده بسال ۱۳۲۲ روش مخصوصی از ثبوت کمپلمان برای سیفیلیس بمیان آورده است که متکی بقواعد سرولوژی و ایمونولوژی چندمی باشد از اینقرار:

۱- حرکت ملایم و چرخش (۱۵۰-۱۸۰ دور در دقیقه) در این روش بکار میرود برای اینکه کمپلمان در نتیجه حرکت شدید از میان نرود.

۲- کمپلمان بر خلاف معمول در آن واحد بمخلوط آنتی ژن و سرم افزوده نمیشود بلکه پس از آنکه این دو ماده یعنی سرم و آنتی ژن ده دقیقه چرخانده شد و مولکولهای پادتن

بدین وسیله و بطور یکنواخت روی ذرات آنتی ژن قرار گرفت کمپلمان بدان مخلوط افزوده میشود.

۳- کلیه حجم آزمایش به نیم سانتیمتر مکعب تقلیل داده شده است بطوریکه بعداً یعنی پس از افزایش کمپلمان بمخلوط آنتی ژن و سرم دوباره کمپلمان خیلی رقیقتر نمیگردد.

۴- محلول نمک خالص هشت و نیم در هزار با تامپون در آب دوباره تقطیر شده تازه در این آزمایش بکار میرود.

۵- حرارت ۳۵ درجه بمدت ده دقیقه برای چسبیدن مولکولهای پادتن بر ذرات آنتی ژن بکار میرود و در طرف این مدت کوتاه تغییرات مهمی بر کمپلمان پیدا نمیشود.

۶- آزمایش در ظرف ۳۰ دقیقه با تمام میرسد و باین ترتیب صرفه جوئی زیادی در وقت و لوازم کار و کار گر پیدا میشود.

۷- لوله های ته تخت که هر یک دارای یک گلوله بلوری است (شکل ۲) در این آزمایش بکار میرود و بدین ترتیب حساسیت سریع و یکنواختی از ذرات آنتی ژن بوسیله مولکولهای پادتن بر اثر حرکت دورانی ملایم در گرمی ۳۵ درجه بانجام میرسد.

۸- برای آنکه نتایج اختصاصی تری بدست میآید آنتی ژن کار دیولی پینی در این آزمایش بکار میرود.

۹- فقط یک دهم سانتیمتر مکعب سرم برای آزمایش کالیتاتیف لازمست. بنابراین آزمایش فوق العاده برای کارهای روزانه لا براتوارهای وابسته به بهداشت عمومی و برای آزمایش خون کودکان بسیار شایسته است.

۱- روش اجرای آزمایش

۱- سرم - سرم مورد آزمایش باید شفاف و تهی از هموگلوبین باشد و پیش از آزمایش نیم ساعت در حرارت ۵۶ درجه گرم شود. در صورتیکه سرم قبلاً گرم شده باشد و بیش از چهار ساعت از آن گذشته باشد دوباره هنگام آزمایش آنرا ۵ دقیقه در گرمی ۵۶ درجه بگذارند.

۲- کمپلمان - خون خو کچه هندی اعم از آنکه تازه و یا لیئوفیلیزه باشد و یا آنکه فعالیت آن بوسیله افزایش مواد شیمیایی حفظ شده باشد در این آزمایش بکار میرود.

۲- آنتی ژن - آنتی ژن کاردیو لی پی نی یعنی مخلوط کاردیو لپین ، کاسترول ولسی تین که بتازگی در آب نمک ۸۵٪ مخلوط شده باشد در این آزمایش بکار میرود .
 ۴- سرم حلاله خون گوسفند که بوسیله تزریق خون این حیوان بخر گوش تهیه شده باشد لازمست این سرم بمقدار برابر با گلیسرین خنثی مخلوط شده و بشرح زیر محلول آن آماده میگردد:

محلول ۸۵٪ کلردوسدیم خالص = ۴ سانتیمتر مکعب.

محلول اسید فنیک ۵ در هزار در محلول نمک = ۴ سانتیمتر مکعب

همولیزین مخلوط با گلیسرین = ۲

ناگفته نماند که در این آزمایش کلروردوسدیم خالص بمیزان ۸۵٪ و آب مقطر تازه که بهر لیتر آن یکسانتی گرم سولفات منیزی افزوده شده باشد بکار میرود .

۴- روش تعیین عیار کمپلمان

باید لوله های ته تخت بطول ۹ سانتیمتر و دهانه يك سانتیمتر ونیم و جالوله های مخصوص کولمر بکار رود این جالوله ایها بهتر است دارای ۴۸ یا ۷۲ سوراخ بوده و در هر ردیف ۱۲ سوراخ داشته باشد.

قبلا شش لوله در سوراخهای جلو جالوله ای يك در میان بگذارند سپس در ردیف عقب بازم يك در میان ۶ لوله دیگر در سوراخهایی که جلوی آنها لوله گذاشته نشده قرار دهند بطوریکه در مقابل هر سوراخی از ردیف جلو که تهی از لوله است در ردیف عقب لوله ای جای داشته باشد در گوشه دیگر از همین جالوله ای چهار لوله دیگر در يك ردیف بگذارند آنگاه بلوله اول از ردیف دوم دودهم سانتیمتر مکعب و بکلیه لوله های دیگر بغیر از چهار لوله ردیف سوم که مخصوص کنترل است یکدهم سانتیمتر مکعب محلول نمک ۸۵٪ اضافه کنند سپس بوسیله پی پت دودهم سانتیمتر مکعبی همین مقدار سرم خو کچه هندی بر گرفته یکدهم سانتیمتر مکعب آن را به نخستین لوله ردیف جلو و یکدهم سانتیمتر مکعب مانده را به نخستین لوله ردیف عقب میافزایند سپس محتوی نخستین لوله ردیف جلو را چند مرتبه بدرون پی پت کشیده دوباره داخل لوله بدمند. آنگاه محتوی را بخوبی بایکدیگر در آمیخته و از آن یکدهم سانتیمتر مکعب بر گرفته بلوله دوم بریزند و بهمین ترتیب عمل رقیق نمودن تدریجی کمپلمان را انجام دهند تا بلوله ششم برسد سپس یکدهم سانتیمتر مکعبی که از لوله ششم بر گرفته شده بدور بریزند.

آنگاه ردیف عقب پرداخته و پس از درآمیختن کمپلمان با سرم فیزیولوژی موجود دو دهم سانتیمتر مکعب از مخلوط برگرفته قبلاً یکدهم سانتیمتر مکعب از آن را بدون ریخته و یکدهم سانتیمتر مکعب بقیه را در لوله دوم ریخته و بهمان ترتیب ردیف جلو تالوله ششم عمل کنند. سپس لوله‌های ردیف عقب را در سوراخهای خالی ردیف جلو جای دهند. باین ترتیب محلول کمپلمان به نسبت‌های

$$\frac{1}{2} - \frac{1}{3} - \frac{1}{4} - \frac{1}{6} - \frac{1}{8} - \frac{1}{12} - \frac{1}{16} - \frac{1}{24} - \frac{1}{32} - \frac{1}{48} - \frac{1}{64} - \frac{1}{96}$$

بدست می‌آید.

آنگاه از محلول یک در صد همولیزین مخلوط یک در سه هزار آماده نموده و یکدهم سانتیمتر مکعب، بوسیله پی‌پت تازه بهر لوله میافزایند سپس مخلوط آنتی ژن یعنی مخلوطی از ۰.۳ درصد کاردیولی پین ۰.۹ درصد کولسترین و ۲۰ درصد سدسی تین که بتنازگی در مخلوط نمک تهیه کرده باشند بمقدار ۰.۱۵ سانتیمتر مکعب بهمه لوله‌ها افزوده و ۰.۵ سانتیمتر مکعب آب نمک نیز بهمه لوله‌ها اضافه نموده بهر لوله یک دانه بلوری باندازه متوسط انداخته مخلوط را ده دقیقه روی اسباب روتاتور در گرمخانه ۳۵ درجه قرار گرفته باشد حرکت دهند سپس یکدهم سانتیمتر مکعب از مخلوط دو درصد خون شسته شده گوسفند که سه بار پی‌در پی آنرا در آب نمک شستشو داده باشند بکلیه لوله‌ها افزوده و دوباره لوله‌ها را بمدت دو دقیقه در گرمخانه ۳۵ درجه حرکت دهند. عیار کمپلمان لوله ایستکه در آن گویچه‌های سرخ خون گوسفند انحلال کامل پیدا کرده و محتوی آن زلال و شفاف شده باشد. مثلاً اگر در لوله هفتم انحلال خون گوسفند کامل باشد در این صورت عیار کمپلمان یک شانزدهم خواهد بود.

آنتی ژن

آنتی ژنیکه برای این آزمایش بکار میرود عبارتست از مخلوطی ۰.۳ درصد کاردیولی پین ۰.۹ درصد کولسترین و ۲۰ درصد سدسی تین است که باید قبلاً مطابق روش معمولی تعیین عیار آنتی ژن، عیار آن تعیین گردد این ترکیب معمولاً عیاری به نسبت $\frac{1}{150}$ بدست میدهد و باید ۰.۱ سانتیمتر مکعب آن بعنوان یک واحد بکار رود.

آنتی ژن آزمایشی V.D.R.L همچنان برای این کار صلاحیت استعمال دارد و باید پس از آنکه آنتی ژن بر روش معمولی برای آزمایش V.D.R.L حاضر شد امولسیون آنرا

به نسبت $\frac{1}{14}$ در سرم فیزیولوژی مخلوط نمایند.

ناگفته نماند که در مورد تعیین عیار کمپلمان باید چهار لوله بعنوان کنترل آنتی ژن - همولیزین - کمپلمان و خون گوسفند شرح زیر بلوله های آزمایش افزوده شود:

- ۱- کنترل خون گوسفند = ۰٫۱ سانتیمتر مکعب مخلوط خون گوسفند با اضافه ۰٫۴ سرم فیزیولوژی .
 - ۲- کنترل آنتی ژن = ۰٫۱۵ سانتیمتر مکعب آنتی ژن با اضافه ۰٫۳۵ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی با اضافه ۰٫۱ سانتیمتر مکعب خون گوسفند.
 - ۳- کنترل همولیزین = ۰٫۱ سانتیمتر مکعب همولیزین . ۱۰٪ با اضافه ۰٫۲ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی با اضافه ۰٫۱ سانتیمتر مکعب خون گوسفند ۲ درصد .
 - ۴- کنترل کمپلمان = ۰٫۱ سانتیمتر مکعب کمپلمان یک سوم با اضافه ۰٫۳ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی با اضافه ۰٫۱ سانتیمتر مکعب خون گوسفند .
- بدیهی است در هیچ یک از چهار لوله کنترل نباید کوچکترین اثری از انحلال گویچه های خون گوسفند وجود داشته باشد.

۴- سنجش عیار همولیزین

برای اینکار باید عیناً مانند سنجش عیار کمپلمان ۱۲ لوله در دو ردیف شش تایی پشت سرهم و یک در میان بگذارند بطوری که لوله های ردیف عقب درست مقابل سوراخهای خالی ردیف جلو قرار گیرد . آنگاه بهمان ترتیبیکه در مورد سنجش عیار کمپلمان یادداشت شد . بلوله اول از ردیف دوم ۰٫۲ سانتیمتر مکعب و به بقیه لوله ها یکدهم سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی . ۸٫۵٪ بریزند .

در اینجا باید یادآوری کرد که چه برای سنجش عیار کمپلمان و یا سنجش عیار همولیزین باید پی پت های نشکسته و نوک تیر یک سانتیمتر مکعبی مدرج بکار برده و نوک پی پت را مستقیماً بته لوله قرار داده مایع را رها کنند آنگاه از محلول همولیزین یک درصد ۰٫۲ سانتیمتر مکعب برداشته ۰٫۱ سانتیمتر مکعب بلوله نخست از ردیف جلو

۱۰ سانتیمتر مکعب دیگر بلوله نخست از ردیف عقب افزوده و بوسیله پی‌پت تازه دیگر از لوله اول پس از در آمیختن ۱۰ سانتیمتر مکعب برگرفته بلوله دوم ریخته و اینکار را تا لوله ششم دنبال کنند. سپس بر ردیف دوم پرداخته ۲۰ سانتیمتر مکعب از محتوی لوله اول از ردیف عقب برگرفته نیمی از آنرا بدور ریخته بقیه را در لوله دوم همان ردیف ریخته و در این ردیف نیز کار را تا لوله ششم ادامه دهند و ۱۰ سانتیمتر مکعبی که از لوله ششم هر ردیف برگرفته میشود بدور ریزند.

بدینترتیب در صورتیکه لوله‌های ردیف عقب بلوله‌های ردیف جلو پیوست شود مخلوط‌هایی به نسبت :

۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۲۰۰	۱۶۰۰	۲۴۰۰	۳۲۰۰	۴۸۰۰	۶۴۰۰	۹۶۰۰	

بدست می‌آید .

آنگاه ۱۵ سانتیمتر مکعب مخلوط آنتی‌ژن بهر لوله افزوده ۰۵ سرم فیزیولوژی نیز بهر لوله اضافه نموده . با افزایش ۱۰ سانتیمتر مکعب از مخلوط کمپلمان (طبق عیار یکه بدست آورده اند مثلاً یک شانزدهم) کار را تکمیل نموده درون هر لوله یکدانه بلوری بطرف متوسط انداخته ده دقیقه مخلوط را بوسیله اسباب مخصوص چرخش (روتاتور) که در گرمخانه ۳۵ درجه قرار داشته باشد با سرعت ۱۵۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه چرخانده سپس ۱۰ سانتیمتر مکعب از مخلوط ۲٪ خون گوسفند به مخلوط افزوده دو باره ده دقیقه با همان سرعت و در همان حرارت چرخانده سپس نتیجه را یادداشت کنند

عیار همولیزین عبارتست از مخلوط لوله ایست که خون گوسفند محتوی آن انحلال کامل پیدا کرده باشد مثلاً اگر لوله ششم کاملاً زلال و شفاف شده باشد عیار همولیزین $\frac{۱}{۱۳۰۰}$ خواهد بود که باید با مخلوط $\frac{۱}{۱۶}$ کمپلمان به میزان ۱۰ سانتیمتر مکعب بکار رود .

بدیهی است همان لوله‌های کنترل که برای خون گوسفند آنتی‌ژن همولیزین و کمپلمان یادآوری کردیم در اینجانبین بعنوان کنترل بکار میرود .

۴- آزمایش اصلی در سرم «کالیتایف»

آزمایش اصلی در دلولوله انجام میشود بدین ترتیب که ۰.۰۵ سانتیمتر مکعب سرم مورد آزمایش را که زلال و شفاف و تپیی از هموگلوبین باشد و تازه آنرا نیم ساعت در حرارت ۵۶ درجه گرم نموده باشند در دلولوله ته تخت بریزند (نوگ پی پت به ته لوله باید مماس شود) سپس ۰.۱۵ سانتیمتر مکعب از مخلوط آنتی ژن بلوله جلو ۰.۱۵ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی بلوله عقب افزوده در هر لوله یکدانه بلوری انداخته ده دقیقه مخلوط را در گرمخانه ۳۵ درجه بسرعت ۱۵۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه بوسیله اسباب مخصوص بچرخانند آنگاه مطابق عیاری که هنگام سنجش عیار کمپلمان بدست آورده اند و بحجم ۰.۱ سانتیمتر مکعب کمپلمان بهر دلولوله افزوده و در تبه با همان شرایط ده دقیقه مخلوط را بچرخانند سپس ۰.۲ سانتیمتر مکعب از مخلوط همولیزین و خون گوسفند (که قبلاً چند دقیقه آندو را بمقدار لازم و حجم برابر بایکدیگر مخلوط کرده باشند) بهر لوله افزوده ده دقیقه برای دفعه سوم مخلوط را در همان شرایط بچرخانند و بلافاصله نتیجه را یادداشت کنند.

هر گاه محتوی هر دو لوله جلو و عقب یعنی لوله مخصوص آزمایش و لوله مخصوص کنترل زلال و شفاف و همولیز در هر دو کامل باشد نتیجه منفی است.
در صورتیکه محتوی لوله عقب زلال و شفاف و انحلال خون گوسفند در آن کامل باشد اما در لوله جلو خون گوسفند دست نخورده مانده و هیچگونه آثاری از همولیز در آن نباشد نتیجه کاملاً مثبت است.

بدیهی است میان این دو حالت یعنی همولیز کامل و عدم همولیز ممکن است درجاتی از همولیز دیده شود که هر گاه عدم همولیز را با علامت اختصاری ++++ و همولیز کامل را با علامت - در نظر بگیریم درجات مختلف همولیز بتدریج +++ و ++ و + خواهد بود.

۵- آزمایش کالیتایف در سرم

روش این آزمایش عیناً مانند آزمایش کالیتایف است با این اختلاف که در اینجا باید محلولهای مختلفی از سرم بکار رود. برای این کار باید هفت لوله ته تخت در جالوله ای نهاده بلوله اول ۰.۱ سانتیمتر مکعب بلوله آخر ۰.۲۵ سانتیمتر مکعب و به بقیه لوله ها ۰.۱ سانتی متر مکعب سرم فیزیولوژی بریزند. سپس معادل ۰.۱ سرم مورد آزمایش (که تازه

گرم شده باشد) گرفته نیمی از آن یعنی ۰/۰۵ سانتیمتر مکعب بلوله نخست و نیم دیگر را آخر بریزند سپس محتوی لوله اول را بوسیله چند بار کشیدن و دوباره ریختن آن در لوله بکمل پی پت بخوبی مخلوط نموده ۰/۱ سانتیمتر مکعب از آنرا برگرفته بلوله دوم افزوده و بهمین ترتیب کار را تا لوله ششم دنبال کنند و ۰/۱ سانتیمتر مکعب که از لوله ششم گرفته میشود بدور بریزند بدین ترتیب محلولهای مختلفی از سرم به نسبتهای

$$\frac{1}{128} \quad \frac{1}{64} \quad \frac{1}{32} \quad \frac{1}{16} \quad \frac{1}{8} \quad \frac{1}{4}$$

بدست میآید (لوله آخر مخصوصی کنترل است و باید در آن همیشه همولیز کامل باشد). (آنگاه معادل ۰/۱ سانتیمتر مکعب از مخلوط آنتی ژن بهر لوله بغیر از لوله آخر افزوده و در هر لوله یکدانه بلوری انداخته ده دقیقه لوله را بهمان ترتیب آزمایش کالیتاتیف بچرخانند سپس ۰/۱ سانتیمتر مکعب کمپلمان (مطابق عیار) و ۰/۱ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی بکلیه لوله ها افزوده ده دقیقه دیگر لوله ها را در حرارت ۳۵ درجه بچرخانند سپس ۰/۲ سانتیمتر مکعب از مخلوط همولیزین و خون گوسفند بکلیه لوله ها افزوده ده دقیقه لوله ها را چرخانده نتیجه را یادداشت کنند.

عیار آژین عبارتست از محلولی از سرم که بهیچوجه در آن آثاری از انحلال خون گوسفند دیده نشود مثلاً هر گاه لوله چهارم باشد مقدار آژین برابر ۳۲ واحد خواهد بود.

۶- آزمایش کالیتاتیف و کانتیتاتیف مایع نخاعی

آزمایش های کالیتاتیف و کانتیتاتیف مایع نخاعی عیناً مانند آزمایشهای سرم خون خون انجام میشود فقط باین اختلاف که در آزمایش مایع نخاعی باید نیم سانتیمتر مکعب مایع خیلی تازه که بخوبی در سانتریفوژ و چرخانده باشند بکار رود.

در آزمایش کانتیتاتیف نخست ۰/۵ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی درشش لوله اول و ۰/۱ سانتیمتر مکعب در لوله آخر بریزند آنگاه یک سانتیمتر مکعب از مایع نخاعی برگرفته نیمی از آنرا در لوله اول و نیم دیگر را در لوله آخر بریزند سپس مانند سرم محتوی لوله اول را خوب بهم در آمیخته از لوله اول بلوله دوم و از دوم سوم و از سوم بچهارم تا لوله ششم رقیق نمودن مایع نخاع را دنبال نموده نیم سانتی متر مکعبی که از لوله ششم برگرفته میشود بدور بریزند. آنگاه مخلوط آنتی ژن بدانها افزوده و بقیه آزمایش را مانند سرم بیابان رسانند. لوله آخر باید بدون آنتی ژن باقی بماند و مخصوص

کنترل است که همیشه باید در آن همولیز کامل باشد و در غیر این صورت سنجش عیار بی ارزش است.

تجربیات

۱- مقایسه نتایج آزمایش ثبوت مکمل تغییر یافته (MCF) با آزمایش V.D.R.L

بر سرم ۶۷۶ دانشجو:

آزمایش MCF	آزمایش V.D.R.L
مثبت ضعیف ۲	مثبت ضعیف ۳
مثبت ۰	مثبت ۰
منفی ۶۷۳	منفی ۶۷۳

با در نظر گرفتن این موضوع که معمولاً این اشخاص غالباً دانشجوی پزشکی بوده و دانشجوی پزشکی شخص سالمی فرض میشود میتوان در نظر گرفت که آزمایش MCF و V.D.R.L متوازیاً و یکدواخت جواب مثبت غیر اختصاصی فقط نسبت ۴٪ داده است.

۲- مقایسه آزمایش MCF و آزمایش V.D.R.L از حیث عیار رآژین بنسبت به ۱۱۹۵

سرم سیفیلیس:

آزمایش MCF برابر با V.D.R.L	۳۱۰ (۲۶ درصد)
آزمایش MCF کمتر از V.D.R.L	۱۸۳ (۱۵/۳ درصد)
آزمایش MCF بیشتر از V.D.R.L	۷۰۲ (۵۸/۷ درصد)

۳- مقایسه آزمایش MCF با آزمایش کولمر نسبت ۱۷۱ سرم مربوط

بمهاجرین مجارستانی.

آزمایش کولمر	آزمایش MCF
مثبت ۴۲	مثبت ۶۵
مثبت ضعیف ۲۳	مثبت ضعیف ۲۵
منفی ۱۰۶	منفی ۸۱

با در نظر گرفتن این موضوع که مهاجرین غالباً سیفیلیسی تلقی میشوند معلوم میشود که آزمایش MCF نسبت با آزمایش کولمر دارای نتایج مثبت نسبتاً بیشتری بوده است.

۴- مقایسه آزمایش MCF و آزمایشهای واسرمن-کان-مولر و مای نیکه

نسبت به آزمایش نلسون و مایر و تشخیصات بالینی.

تعداد آزمایشهای منفی متوافق =	۳۵۱
« مثبت متوافق =	۴۸۳
« متضاد =	۶۷
جمع کل	۹۰۱

مقدمتاً باید در نظر داشت که اصولاً مقایسه آزمایشهایی مانند آزمایش MCF کان- واسرمن- مولر و مای نیکه یعنی آزمایشهای وابسته ب سرم شناسی کلاسیک که بوسیله آنها رآزین سیفیلیس موجود در سرم نمودار میگردد با آزمایش TPI یا آزمایش نلسون مایر که در آن نوعی از آنتی کور (ایموبیلیزین) معلوم میشود امکان پذیر نیست با وجود این معمولاً هر آزمایشی که چند درصد نتایج مثبت آن در سیفیلیسهای دوره دوم و سوم و نیز انواع سیفیلیسهای کهنه و منفی با آزمایش TPI بیشتر منطبق باشد نتایج آن بیشتر طرف اطمینان قرار میگیرد. در موارد منفی چون بعد از آغاز نخستین دوره سیفیلیس یعنی ده تا پانزده روز پس از پیدایش شانکر در برخی از انواع سیفیلیسهای مخصوص که ممکن است آزمایش TPI نتیجه منفی بدست دهد در موارد دیگر مخصوصاً هر گاه آزمایشهای وابسته بسرولوژی کلاسیک نتایج مثبت غیر اختصاصی و نادرست بدست داده باشد نتیجه آزمایش TPI منفی دارای اهمیت است.

الف- بطوری که در بالا اشاره شد میان ۹۰۱ سرم ۶۷ مورد نتایج آزمایش MCF با آزمایشهای سرولوژی کلاسیک معمول در وین دارای نتایج متضاد بوده است از این ۶۷ مورد آزمایش متضاد ۳۰ سرم بوسیله MCF نتیجه مثبت داشته است در صورتی که همین ۳۰ سرم با آزمایشهای واسرمن-کان-مولر و مای نیکه منفی مانده است. از این ۳۰ سرمی که دارای نتایج متضاد بوده ۲۳ سرم در آزمایش TPI نیز نتیجه مثبت داشته و ۷ سرم دیگر نیز وابسته به بیماران سیفیلیسی زیر بوده است.

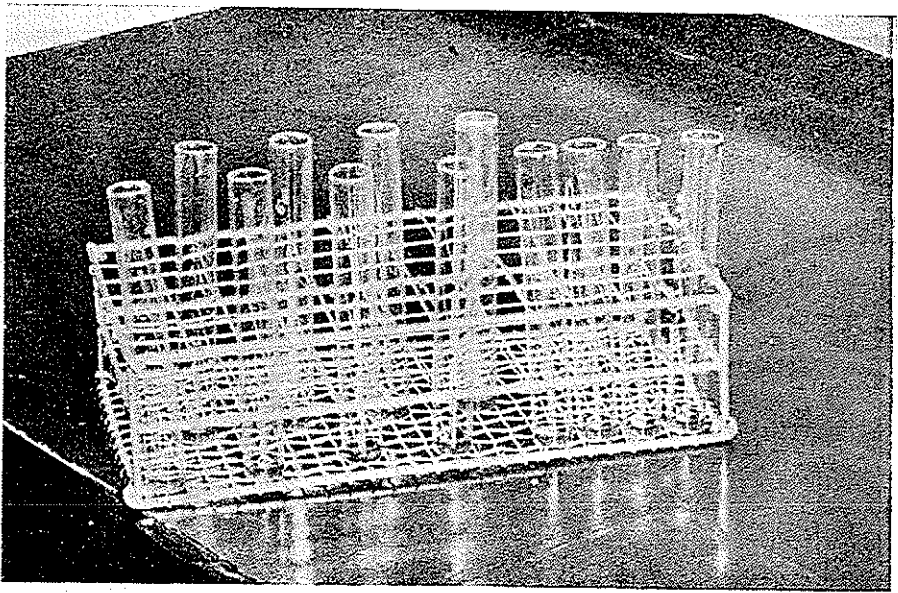
۱- بیماری که از نظر بالینی مشکوک بدارا بودن سابقه سیفیلیس بوده ولی

آزمایش نلسون در سرم او نتیجه منفی بدست داده است.

۲- بیمار دارای عوارض دوره دوم سیفیلیس که آزمایش نلسون سرم او منفی ولی آزمایش VDRL مثبت بوده است

۳- بیمار دارای عوارض دوره دوم سیفیلیس که آزمایش نلسون سرم او منفی و آزمایش VDRI مثبت بوده است.

۴- بیمار دارای عوارض مغزی که آزمایش نلسون در سرم او منفی بوده است.



شکل ۱ - جا لوله مخصوصی که برای سنجش عیار دو ردیف لوله دارد

۵- بیمار دارای دردهای عصبی میان دنده ها (آزمایش نلسون منفی)

۶- بیمار آن دچار به (تابس آزمایش نلسون منفی).

۳۷ سرم در آزمایش MCF نتیجه منفی داشته در صورتیکه آزمایشهای

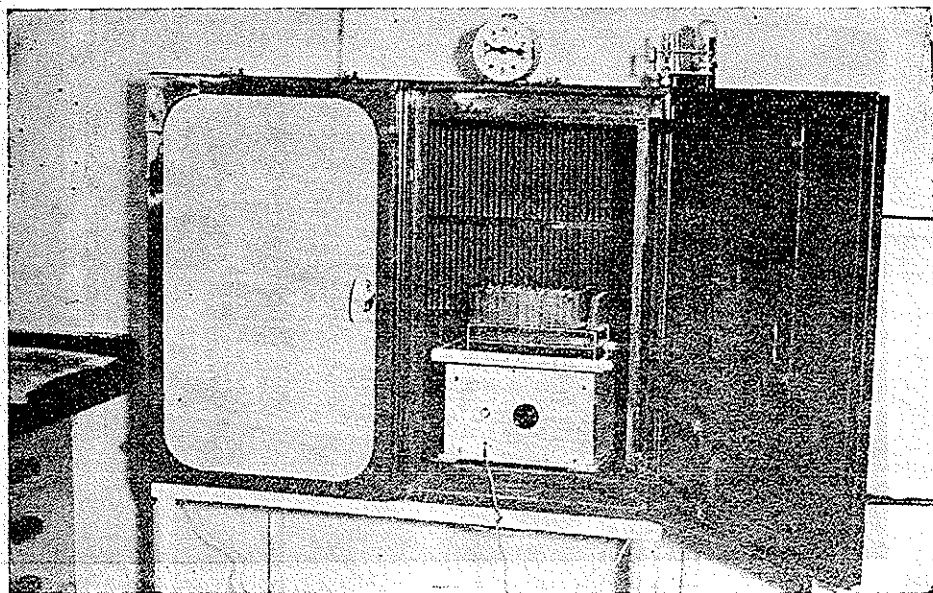
واسرمن - کان - مولرومای نیکه آنها جواب مثبت داشته است.

از این ۳۷ سرم در ۳۵ مورد آزمایش نلسون نتیجه منفی داشته است یک سرم

مربوط به بیمار مبتلا به سیفیلیس مخفی با آزمایش ضعیف مثبت نلسون بوده است - سرم

دیگر مربوط بمریض دچار بسیفیلیس مخفی با آزمایش نلسون مثبت بوده است .
ب- مقایسه آزمایش MCF با آزمایشهای سرمی دیگر مانند آزمایش واسرمن-
کان-مولر-مای نیکه و نلسون

از ۱۷۱ سرم که دارای نتیجه مثبت آزمایش نلسون بوده ۱۰۲ مورد آزمایشهای
کان - مولر واسرمن و مای نیکه مثبت و ۶۹ سرم منفی بوده است . در صورتیکه بوسیله
آزمایش MCF ۱۱۹ سرم مثبت و ۵۲ سرم منفی بوده است .



شکل ۲ - اسباب چرخش لوله ها که درون گرمخانه جای داده شده است

از ۲۳۹ سرمی که در آزمایش نلسون جواب منفی را داشته در ۴۴ مورد
آزمایشهای واسرمن - کان - مای نیکه و مولر نتیجه مثبت و در ۱۹۷ مورد دارای نتیجه
منفی بوده است ولی در آزمایش MCF، ۱۷ سرم دارای نتیجه مثبت و ۲۲۲ سرم دارای
نتیجه منفی بوده است.

بطور خلاصه همانطور که در زیر نشان داده شده در این ۳۰ سرم
مورد اختلاف، آزمایش MCF صد درصد با آزمایش نلسون منطبق و در ۳۷ مورد

منفی MCF به نسبت های ۹۲۸ در صد با آزمایش نلسون منطبق بوده است .

جمع کل آزمایشهای انجام شده = ۹۰۱

۱- مقایسه آزمایش MCF با آزمایشهای مای نیکه - کان - مولر - واسرمن -

بر رویهم با کنترل آزمایش TPI و تشخیص بالینی:

مثبت های متوافق = ۴۸۳ منفی های متوافق = ۲۵۱ نتایج متضاد = ۶۷

از این ۶۷ سردارای نتایج متضاد:

MCF مثبت WMkML منفی = ۳۰

مطابقت MCF با TPI و کلینیک باهم در این ۳۰

مورد مثبت ۱۰۰٪

عدم مطابقت WMkML با TPI و کلینیک در این

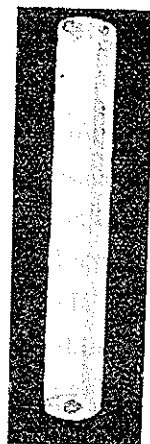
۳۰ مورد ۰٪

WMkML مثبت MCF منفی = ۳۷

مطابقت MCF با TPI در این ۳۷ مورد ۹۴٫۶٪

عدم مطابقت WMkML با TPI در این ۳۷ مورد

۵٫۴٪



شکل ۳

لوله ته تخت که درون آن یک دانه بلوری نمایان است

۲- مقایسه آزمایش MCF و آزمایشهای واسرمن - مای نیکه - مولر و کان با

آزمایش TPI:

مثبت ۴۴	منفی ۱۹۵	TPI	مثبت ۱۰۲	منفی ۶۹	TPI
مثبت ۱۷	منفی ۲۲۲	MCF	مثبت ۱۱۹	منفی ۵۲	MCF
		۲۳۹			۱۷۱
		منفی			مثبت

۳- مقایسه پورسانتاژ حساسیت آزمایشهای (واسرمن - کان - مولر - مای نیکه) با

آزمایش MCF نسبت با آزمایش TPI

مثبت ۴۴	منفی ۱۹۵	WMkML	مثبت ۲۱۰	منفی ۶۹	WMkML
مثبت ۱۷	منفی ۲۲۲	MCF	مثبت ۱۱۹	منفی ۵۲	MCF
		۲۳۹			۱۷۱
		TPI			TPI
		منفی			مثبت

توضیح: علامت های اختصاری M = مای نیکه = ML = مولر = W = واسرمن

MCF = آزمایش مورد مقایسه TPI = آزمایش نلسون .

خلاصه و نتیجه: یک روش سریع ثبوت کمپلمان برای تشخیص سیفیلیس که در آن حرکت ملایم (چرخش ۱۵۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه) شرح داده شده است. - در این روش لوله‌های ته‌نخت که در هر یک یک مروارید بلوری برای خوب بهم‌در آمیختن آنتی‌ژن و رآژین است بکار میرود و کلیه حجم آزمایش نیم‌ساعتی کمتر مکعب و کمپلمان دوبار هر دفعه ده دقیقه در حرارت ۳۵ درجه بطور ملایم چرخانده میشود. بنابراین کمپلمان تغییر محسوس در جریان آزمایش پیدا نمیکنند. و رآژین سریع و یکنواخت بر آنتی‌ژن می‌چسبند.

REFERENCES

- 1- Caechtgehs, W.Z. *Imm. forsch.* 63:398 1929
- 2- Ehrmann, G. *Archive f. Klin u. exp. Derm.* Bd. 202 1956
- 3- Hans Schmidt, *Fortschritte der Serologie, Darmstaat* 1955
- 4- Harry Eagle. *The Laboratory Diagnosis of Syphilis The C.V. Mosby Compagny St. Louis* 1937
- 5 - Heidelberger, M. *Lectures in Immunochemistry Academic Press, New York U.S.A.* 1956
- 9- Hombria, A. *Acta Dermatopsychiatr.* 23, 680-683 1931
- 7- Kadish, E. *Med. Klin. S.* 1620 1926
- 8- Kail, F. *Zeitschr. f. H. u. Geschl.* Bd XI Heft 7 1950
- 9- Kabat, E. A. and Mayer M.M. *Experimental Immunochimistry Charles c Thomas Springfield Illinois U.S.A.* 1948
- 10- *Manual of Serologic tests for Syphilis, Supplement No 22 The Journal of Venereal Disease information, U.S. Government printing office, Washington* 1949
- 12- Mirdamadi, H. *Rev. Fac. Teh.* Vol -11. No. 3 1953
- 1۲- Mirdamadi, H. *Rev. Fac. Med. Teh.* Vol. 11 No. 9 1954
- 13- Mirdamadi, H. and Nazari G. *Acta Medica Iranica Vol. 1 No. 1* 1957
- 14- Nelson, A and Mayer M.J. *Exp. Med.* 28; 297 1948
- 15- Pangborn M. *Proc. Exp. Biol. Sog. and Med.* 48, 484, 486 1941
- 16- Portella, O. *Annual Report of the Division of Laboratories and Research, Albany U.S.A.* 1950
- 17- Ruge, H. *O. Stschr. Hyg. Rd.* 144 1958